

Rudenko I.V.,

*The Odessa National Medical University, Doctor of Medical Science,
Professor of Obstetrics and Gynecology Department № 1,*

Lihachev V.K.,

*Ukrainian Medical Dental Academy, Professor, Doctor of Medical Sciences,
the Head of Obstetrics and Gynecology Department № 2,*

Mishchenko V.P.,

*The Odessa National Medical University, Doctor of Medical Science,
Professor of Obstetrics and Gynecology Department № 1*

***Hereditary predisposition to non carry pregnancy,
reproductive losses from the point of view
of medico-genetic diagnostics***

Abstract: The analysis of genetical models (gene grids) propensity genes: collagen 2 type (COL2A1 6846C/A), inhibitor of activators plazminogen-1 (PAI-1 PLANH1), superoxyddismutasa (SOD1 7958 G/A), glutation-S-transferasa (GST μ 1), N-Acetyl transferasa - 2 (NAT2) it is made at 327 women and role in reproductive losses is shown.

Keywords: medico-genetic diagnostics, hereditary propensity, non carry pregnancy, reproductive losses.

Руденко І.В.,

*Одеський національний медичний університет, доктор медичних наук,
професор кафедри акушерства та гінекології № 1,*

Ліхачов В.К.,

*Українська медична стоматологічна академія, професор,
доктор медичних наук, завідувач кафедри акушерства і гінекології № 2,*

Міщенко В.П.,

*Одеський національний медичний університет, доктор медичних наук,
професор кафедри акушерства та гінекології № 1*

Спадкова схильність до невиношування вагітності і репродуктивних втрат з точки зору медико-генетичної діагностики

Анотація: Проведено аналіз генетичних моделей (генні сітки) генів, асоційованих з ризиком невиношування вагітності: колагену 2 типу (COL2A1 6846C/A), інгібітора активаторів плазміногена-1 (PAI-1 PLANH1), супероксиддисмутази (SOD1 7958 G/A), глутатіон-S-трансферази (GST μ 1), N-ацетилтрансферази-2 (NAT2) у 327 жінок та показана їх роль у репродуктивних втратах.

Ключові слова: медико-генетична діагностика, спадкова схильність, невиношування вагітності, репродуктивні втрати.

Вступ. Невиношування вагітності представляє собою патологічний процес в материнському організмі, що виникає у відповідь на імплантацію та розвиток заплідненої яйцеклітини, яка містить не тільки материнську, а і батьківську генетичну інформацію [1]. В структурі репродуктивних втрат близько 25% складає звичне невиношування. Ризик втрати плода після першого викидня становить 13-17%, після 2-го – 36-38%, після 3-х викиднів – 40-45% [2].

Однією з основних причин невиношування вагітності ранніх термінів як мультифакторної патології є різноманітні генетичні фактори (хромосомні аберації, генні мутації, спадкова схильність). Самовільний аборт в ранні терміни трактується як «еволюційний механізм елімінації неповноцінних нащадків» [3].

Мультифакторні захворювання, акушерсько-перинатальні ускладнення детермінуються цілою групою генів. В групі генів-кандидатів, що асоційовані з ризиком невиношування вагітності визнано гени: колагену 2 типу (COL2A1 6846C/A), інгібітора активаторів плазміногена-1 (PAI-1 PLANH1), супероксиддисмутази (SOD1 7958 G/A), глутатіон-S-трансферази (GST μ 1), N-ацетилтрансферази-2 (NAT2) та інші [3,4].

Низький рівень генетичного моніторингу, недостатньо активне прогнозування гестаційних ускладнень – основні складові проблеми невиношування та профілактики акушерсько-перинатальних ускладнень [4,5].

Ідентифікація генетичного поліморфізму, що асоційований з акушерсько-перинатальними ускладненнями, дозволяє встановити спадкову схильність до певних захворювань та намітити превентивні заходи. Вищезазначені процеси можуть мати прогностичне значення на етапі планування вагітності [6].

Мета дослідження. На основі аналізу наявності генетичного поліморфізму генів схильності до акушерсько-перинатальних ускладнень [колагену 2 типу (COL2A1 6846C/A), інгібітора активаторів плазміногена-1 (PAI-1 PLANH1), супероксиддисмутази (SOD1 7958 G/A), глутатіон-S-трансферази (GST μ 1), N-ацетилтрансферази-2 (NAT2)] показати їх роль у репродуктивних втратах мультифакторної природи та спланувати методи преконцепційної профілактики.

Матеріали та методи дослідження. В амбулаторних та стаціонарних умовах проведено скринінгове генетичне тестування 327 жінок на наявність можливості невиношування, ризику розвитку акушерсько-перинатальних ускладнень та їх роль у виборі преконцепційної профілактики. Із них тестування проведене під час вагітності у 21 вагітної з неускладненим перебігом вагітності, пологів, післяпологового періоду, що народили здорових дітей (контрольна група I). Тестування у групі II проведено також під час гестації (102 вагітних з ознаками акушерсько-перинатальних ускладнень, яким проводилась стандартні лікувально-профілактичні заходи). У групі III тестування проведено за 3-4 місяці до запліднення (204 жінки, яким за 3-4 місяці до запліднення та під час гестації застосовано вдосконалені профілактичні заходи акушерсько-перинатальних ускладнень). Визначення генотипів досліджуваних генів проводили методом ПЛР.

Формування груп ризику щодо проблеми невиношування та розвитку акушерсько-перинатальних ускладнень проводилось з урахуванням повторної вагітності, репродуктивних втрат в анамнезі, акушерських кровотеч, генетично детермінованих факторів, наявності епігенетичних чинників, наявності захворювань та станів, що виникають за участі дисплазії сполучної тканини, поліморфізму генів-кандидатів, що асоційовані з ризиком акушерсько-гінекологічної патології, гіповітамінозом вітамінів групи В, заплідненням у зимовий і весняний періоди року, на фоні прийому лікарських, гомеопатичних препаратів і біологічно активних добавок, з наявністю ознак ГРВІ у ранні терміни вагітності, перинатальних інфекцій, кров'янистих виділень із статевих шляхів у ранні (до 8 тижнів) терміни вагітності.

Прегравідарна підготовка включала:

- припинення шкідливих впливів: відмова від паління, вживання алкоголю, виключення впливу факторів шкідливого промислового виробництва, уникнення психоемоційних перевантажень та стресів;

- оздоровлення жінки/чоловіка та лікування хронічних захворювань: нормалізація режиму праці та відпочинку, створення сприятливих психоемоційних станів на виробництві та в сім'ї, раціональне харчування, регулярні фізичні навантаження, санація екстрагенітальних вогнищ хронічної інфекції, нормалізація маси тіла, вакцинація проти краснухи, гепатиту В.

Підготовка пацієнток екстрагенітальними захворюваннями включала:

- при цукровому діабеті – стійка компенсація вуглеводного метаболізму упродовж трьох місяців до запліднення та призначення фолієвої кислоти 800 мкг на день за 3 місяці до запліднення;

- при артеріальній гіпертензії – підтримання нормотензії, перехід на антигіпертензивні препарати, які дозволені до застосування під час вагітності;

- при гіпотиреозі – корекція замісної терапії L-тироксином для досягнення еутиреоїдного стану;

- при епілепсії – перехід на протисудомні засоби з меншою негативною дією на плід, збільшення дози фолієвої кислоти до 800 мкг на день за 3 місяці до запліднення;

- при вадах серця – радикальне хірургічне лікування за показаннями;

- при хворобах, що потребують постійної антикоагулянтної терапії – відміна тератогенних кумаринових похідних, призначення гепарину та його низькомолекулярних похідних;

- при інших екстрагенітальних захворюваннях – хірургічне лікування, корекція терапії, досягнення ремісії хвороби;

- виявлення та лікування ВІЛ інфекції.

Результати дослідження та їх обговорення. *Колаген 2 типу* – найбільш розповсюджений білок матрикса сполучної тканин. В гені COL2A1 6846C/A ідентифіковано декілька варіантів поліморфізму (C/C, C/A, A/A), із яких алель A неповноцінна. Результатом наявності A-алелей є підвищена експресія гена COL2A1, що приводить до появи функціонально неповноцінних гомо-тримерних колагенових волокон. У контрольній групі I нормальні гомозиготні генотипи C/C виявлені у 15 жінок (71,4%), гомозиготні поліморфні генотипи A/A

визначені у 1 жінки (4,8%) та гетерозиготні C/A - у 5 осіб (23,8%). Показники не виходили за межі популяційних рівнів для європоїдної раси.

У групі II частота поліморфного гомозиготного генотипу C/C склала 7 випадків (6,9%), гомозиготного генотипу A/A – 59 випадків (57,8%) ($p < 0,01$), гетерозиготного генотипу C/A – 36 випадків (35,3%). Величина співвідношення шансів розвитку акушерсько-перинатальних ускладнень (odds ratio, OR) у групі II склала 1,5 і знаходилась у межах довірчого інтервалу (CI - 0,53 - 2,69; $P = 0,95$).

У групі III частота гомозиготних генотипів A/A склала 105 випадків (51,5%), гомозиготних C/C – 20 (9,8%) ($p < 0,01$), гетерозиготних C/A – 79 випадків (38,7%).

Одержані дані підтверджують ризик розвитку акушерсько-перинатальних ускладнень у вагітних групи II, як результат порушення процесів колагеноутворення у вигляді недиференційованої дисплазії сполучної тканини внаслідок наявності поліморфізму гена COL2A1 6846C/A та підтверджують існування суттєвого зв'язку поліморфізму гена COL2A1 6846C/A по A/A і C/A алелям з розвитком невиношування та акушерсько-перинатальних ускладнень.

Інгібітор активаторів плазміногена-1 (Plasminogen Activator Inhibitor-1, PAI-1) перешкоджає фібринолізу і кодується геном PAI-1 PLANH1 675 5G/4G. У носіїв алелей 4G концентрація PAI-1 вища, ніж у носіїв алелей 5G, що приводить до підвищення ризику порушення функцій плаценти і невиношування вагітності.

У групі I частота нормального гомозиготного генотипу 5G/5G склала 14 випадків (66,7%), гомозиготного генотипу 4G/4G – 1 випадок (4,8%), гетерозиготного генотипу 5G/4G – 6 випадків (28,6%). Показники не виходили за межі популяційних даних.

У групі II частота поліморфного гомозиготного генотипу 4G/4G складає 67 випадків (65,7%), гомозиготного генотипу 5G/5G – 9 (8,8%) ($p < 0,01$) і гетерозиготного генотипу 5G/4G – 26 випадків (25,5%). Величина співвідношення шансів у групі II склала 2,0 і знаходилась в межах довірчого інтервалу (CI) - 0,53 - 2,69; $P = 0,95$.

Гомозиготний поліморфний генотип 4G/4G у групі III визначений у 109 випадках (53,4%), 5G/5G - у 21 (10,3%) ($p < 0,01$), гетерозиготний генотип 5G/4G – у 74 випадків (36,3%).

Супероксиддисмутаза кодується геном SOD1 7958 G/A, поліморфізм якого представлено гомозиготними алелями G/G, гетерозиготними - G/A, при яких

активність СОД1 не виходить за межі популяційних показників та гомозиготним варіантом A/A, при якому активність СОД1 різко знижується. Частота поліморфного гомозиготного генотипу A/A у групі I була у 3 жінок (14,3%), гомозиготного генотипу G/G - у 18 жінок (85,7%).

У групі II частота виявлення ознак поліморфізму генотипу A/A склала 71 випадок (69,6%), генотипу G/G – 20 (19,6%) ($p < 0,01$), генотипу G/A – 11 випадків (10,8%). Величина співвідношення шансів у групі II склала 1,6 і знаходилась в межах довірчого інтервалу (CI) - 0,53 - 2,19; $P = 0,95$. Вищенаведене в певній мірі пояснює неспроможність антиоксидантного захисту та ризик виникнення інфекційних процесів у обстежуваного контингенту на генетичному рівні.

У групі III частота поліморфного гомозиготного генотипу A/A склала 84 випадки (41,2% спостережень), G/G - 20,1%, що достовірно різнилось з групою I ($p < 0,01$). Гетерозиготний варіант G/A діагностовано у 79 випадках (38,7%).

Група ферментів II-ої фази детоксикації представлена суперсімейством глутатіон-S-трансфераз (GST), ацетилтрансферазами (NAT).

У пацієнтів із делецією гена ферменту GST μ 1 підвищена чутливість до ксенобіотиків, оскільки вона призводить до повної втрати функції ферменту. Генетично детермінована активність глутатіонтрансфераз впливає на розвиток різних форм репродуктивних порушень.

У групі I та III частота нормальних гомозиготних алелей +/+ складає 10 (47,6%) та 57 випадків (27,8%) відповідно. Гомозиготні делеційні алелі у контрольній групі визначені у 9 випадків (42,9%), у групі III - у 113 випадків (55,6%) ($p > 0,05$). Ці показники не виходили за межі популяційних величин для європеїдної раси (42,2-52,3%).

У групі II частота делеційних гомозигот (0/0) складала 72,5% ($p < 0,01$). Коefіцієнт OR у групі III дорівнював 2,2, у групі II - 9,6. Шанси розвитку акушерсько-перинатальних ускладнень знаходились в межах довірчого інтервалу (CI) - 0,53 - 11,9; $P = 0,95$. Одержані дані підтверджують ризик розвитку акушерсько-перинатальних ускладнень як результат порушення процесів метаболізму ксенобіотиків у II-й фазі детоксикації, внаслідок наявності делеційного генотипу глутатіон-S-трансферази m1 (GST m1 0/0) та підтверджують наявність суттєвого зв'язку поліморфізму по 0/0 алелям гена GST m1 з наявністю даних ускладнень. Проведена передконцепційна підготовка не виключає можливості їх розвитку, але знижує їх частоту.

N-ацетилтрансфераза-2 належить до ферментів II-ої фази детоксикації ксенобіотиків. У гена, який кодує фермент, визначають алель прискореного метаболізму R/R з відсутністю мутацій, повільноацетилюючі алелі S2 та S1.

У групі I алель прискореного метаболізму NAT2*4 (R/R) з відсутністю мутацій, що кодує фермент швидкого ацетилювання, склала 19,0%. Мутагенна повільноацетилююча гомозиготна алель (S/S) S1 та повільноацетилююча гомозиготна алель (S/S) S2 були виявлені у 28,6% випадків кожна.

У групі II частота повільноацетилюючого алеля S2 склала 59,8% , а в групі III повільноацетилюючого алеля S1 – 84,8%. Різниця у показниках достовірна ($p < 0,05$). У групі II коефіцієнт OR для алеля S2 склав 3,1, а у групі III OR для алеля S1 дорівнював 6,5.

Висновки

Шанси розвитку гестаційних ускладнень з точки зору наявності поліморфних алелей генів схильності до невиношування вагутності: колагену 2 типу (COL2A1 6846C/A), інгібітора активаторів плазміногена-1 (PAI-1 PLANH1), супероксиддисмутази (SOD1 7958 G/A), глутатіон-S-трансферази (GST μ 1), *N*-ацетил-трансферази-2 (NAT2) знаходяться у межах довірчого інтервалу і асоційовані з акушерсько-перинатальними ускладненнями.

Ідентифікація наявності генетичного поліморфізму, що асоційований з репродуктивними втратами мультифакторної природи, акушерсько-перинатальними ускладненнями дозволяє встановити спадкову схильність до певних захворювань. Вищезазначені дослідження можуть мати прогностичне значення на етапі планування вагітності та дозволяють намітити превентивні заходи.

Список літератури:

1. Запорожан В.М. Сучані погляди на діагностику гестаційних ускладнень / В.М. Запорожан, В.П. Міщенко, І.В. Руденко // Збірник наукових праць Асоціації акушерів – гінекологів України. - К.: Інтермед, 2011. – С. 369-372.
2. Сидельникова В.М. Привычная потеря беременности / Сидельникова В.М. - М.: Триада, 2005. - 308 с.
3. Определение наследственной предрасположенности к некоторым частым заболеваниям при беременности. Генетическая карта репродуктивного здоровья: методические рекомендации / В.С. Баранов, Т.Э. Иващенко, А.С. Глотов [и др.]; под ред. В.С. Баранова и Э.К. Фйламазяна. - СПб.: «Изд-

- во Н-Л», ООО, 2009. - 68 с.: ил. - (Серия Ex libris «Журнал акушерства и женских болезней»).
4. Вплив мутації інгібітора активатора плазміногену - I типу та мутації фібриногену В на виношування вагітності / К.В. Воронин, Т.О. Лоскутова, Н.В. Кравченко [та ін.] // Збірник наукових праць Асоціації акушерів – гінекологів України. - Київ: Інтермед, 2011. - С. 113-116.
 5. Zimmern R.L. The clinical use of genetics and molecular biomarkers: a public health perspectives / R.L. Zimmern // Europ. J. Human Genetics. — 2008. — Vol. 16, Suppl. 2. — P. 7.
 6. Semenyuk L.N., Lihachev V.K. Recovery ovulation in women with obesity, PCOS and pregnancy lose a history // Australian Journal of Scientific Research. - 2014. - № 1 (5). - January-June. - Volume III. - P. 132-138.

Lukyantseva G.V.,

*Associate Professor of Biological Sciences,
National University of Physical Education and Sport of Ukraine*

***Changing the chemical composition of bone white rat
on a background of prolonged use of tartrazine
and the possibility of its correction***

Abstract: Intragastric administration of tartrazine within 60 days of white rats is accompanied by an increase in the water content and the reduction of organic minerals in the studied bones proportional imbalance of macroelement and depletion of trace-element composition. Tartrazine administering a dosage of 1500 mg/kg of body weight accompanied by a significant impairment of the chemical composition of bone than the use of a dosage of 750 mg/kg. During the period of rehabilitation after administration of sodium selenite tartrazine application is accompanied by a reduction of the chemical composition of bones.

Keywords: tartrazine, bones, chemical composition, sodium selenite.

Currently supplements are widely used in the food industry that are foreign substances to humans. One such additive is a synthetic dye tartrazine (E102) [1]. In experimental studies have revealed hepatotoxic and nephrotoxic effect of tartrazine after eating [2; 3]. We have previously found that the 60-day use of tartrazine accompanied by a decrease of morpho-functional activity of the proximal epiphyseal cartilage humerus [4]. At the same time, information on changes in the chemical composition of bone on the background of tartrazine, as well as ways of correction of violations occurring at the same time, is not in the available literature.

Objective: to study experimentally the dynamics of the chemical composition of the bones of the skeleton in white rats after two months of use tartrazine in different concentrations, and a reasonable opportunity to correct his sodium selenite.

Material and methods. The study was conducted on white outbred male rats, the maintenance and manipulation of which were conducted in accordance with the rules established by the "European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes" (Strasbourg, 1986) [5].

Experimental animals were divided into the following groups - 1st control group consisted of animals which daily for 60 days using a stomach tube was injected with 1 ml 0.9% saline (Group A). The following groups of animals - rats that daily for 60 days using a stomach tube was injected with 1 ml tartrazine (manufacturer ROHA DYECHEM PVT LTD, India) at a dose of 750 mg/kg and 1500 mg/kg, respectively (groups T1 and T2). Animals that daily for 60 days using a stomach tube was injected with 1 ml tartrazine at a dosage of 750 mg/kg and 1500 mg/kg, respectively, and intragastrically sodium selenite (manufacturer Biosyn Arzneimittel GmbH, Germany) at a dose of 40 mg/kg They amounted T1S group and T2S.

At the end of the experiment periods (7, 15, 30, 90 and 180 days) the animals were decapitated under ether anesthesia, separated shoulder (SB) and the pelvic bones (PB), and the third lumbar vertebra (LV). Chemical research consisted in determining bone content of water, organic and inorganic substances which are expected gravimetrically after drying to a constant weight of bone at a temperature in a heat cabinet 105⁰S and ashing in a muffle furnace at a temperature within 450-500⁰S 12 pm [6]. The resulting ash was ground in a porcelain mortar and stored in sealed microtubes. To further investigate the ash 10 mg dissolved in 2 ml of 0.1 N hydrochloric acid reagent grade, made up to 25 ml with distilled water. The resulting solution was determined in sodium, potassium, calcium, magnesium, manganese and copper to an atomic absorption photometer such as "Saturn" - 2 emission mode in an air-propane flame [7; 8], as well as phosphorus colorimetrically by Briggs on elektrofotokolorimetre CK-3 [9].

The resulting digital data were processed by methods of variation statistics using the standard applications [10]. We shall be deemed authentic differences with a significance level of $p < 0.05$.

Results and its discussion. With the increase in the test animal bones age of the control group and the water content of organic substances during the observation period was reduced in SB respectively - with $30,00 \pm 0,81\%$ to $27,41 \pm 1,08\%$ and $27,65 \pm 0,83\%$ to $26,56 \pm 0,55\%$, the PB - with $32,43 \pm 0,58\%$ to $29,71 \pm 0,92\%$ and $29,04 \pm 0,56\%$ to $27,81 \pm 0,56\%$ and LV - with $29,61 \pm 1,12\%$ to $29,21 \pm 1,14\%$ and $29,60 \pm 0,63\%$ to $27,44 \pm 0,31\%$. At the same mineral content increased during the observation period, respectively, with $42,36 \pm 0,87\%$ to $46,03 \pm 0,67\%$ in SS, with $38,53 \pm 0,42\%$ to $42,48 \pm 0,89\%$ in PB and $40,79 \pm 1,05\%$ to $43,35 \pm 0,92\%$ in the LV.